

Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/EP05/003677

International filing date: 07 April 2005 (07.04.2005)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: DE
Number: 10 2004 017 474.1
Filing date: 08 April 2004 (08.04.2004)

Date of receipt at the International Bureau: 22 June 2005 (22.06.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

PCT/EP2005/003677

07.06.05



Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung

Aktenzeichen: 10 2004 017 474.1

Anmeldetag: 8. April 2004

Anmelder/Inhaber: Evotec Technologies GmbH, 40225 Düsseldorf/DE

Bezeichnung: Messeinrichtung zur Impedanzspektroskopie und
zugehöriges Messverfahren

IPC: G 01 N 15/10

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ur-sprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 24. Mai 2005
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

Schäfer

BESCHREIBUNG

5 Messeinrichtung zur Impedanzspektroskopie und
zugehöriges Messverfahren

Die Erfindung betrifft eine Messeinrichtung zur Impedanzspektroskopie an Partikeln, die in einer Trägerflüssigkeit
10 suspendiert sind, gemäß dem Oberbegriff des Anspruchs 1 sowie ein entsprechendes Messverfahren gemäß dem Oberbegriff des Anspruchs 25.

Die Impedanzspektroskopie ist beispielsweise aus COSTER et al.: "Impedance Spectroscopy of Interfaces, Membranes and Ultrastructures" (Bioelectro-chemistry and Bioenergetics 40: 79-98) bekannt.

Nachteilig an der bekannten Impedanzspektroskopie ist jedoch die fehlende Eignung zur Untersuchung von suspendierten Zellen oder Partikeln.

Der Erfindung liegt deshalb die Aufgabe zugrunde, eine Messeinrichtung und ein entsprechendes Messverfahren zu schaffen, um die Impedanzspektroskopie an suspendierten Zellen oder Partikeln zu ermöglichen.

Diese Aufgabe wird, ausgehend von einer bekannten Messeinrichtung zur Impedanzspektroskopie gemäß dem Oberbegriff des Anspruchs 1, durch die kennzeichnenden Merkmale des Anspruchs 1 und - hinsichtlich eines entsprechenden Messverfahrens - durch die Merkmale des Anspruchs 25 gelöst.

Die Erfindung beruht auf der Erkenntnis, dass sich die bekannten Impedanzspektroskopieverfahren und -einrichtungen deshalb nicht zur Untersuchung von suspendierten Zellen oder Partikeln eignen, weil diese bekannten Verfahren bzw. Einrichtungen voraussetzen, dass die zu untersuchende Zelle mechanisch (z.B. durch Unterdruck oder Oberflächenfunktionalisierung) fixiert ist.

Die Erfindung umfasst deshalb die allgemeine technische Lehre, die im Rahmen der Impedanzspektroskopie zu untersuchenden suspendierten Partikel (z.B. Zellen) während der Untersuchung räumlich zu fixieren, um auch eine Untersuchung von suspendierten Zellen oder Partikeln zu ermöglichen, wobei die Fixierung im Gegensatz zu den eingangs genannten bekannten Verfahren bzw. Einrichtungen nicht mechanisch erfolgt.

Der im Rahmen der Erfindung verwendete Begriff eines Partikels ist allgemein zu verstehen und nicht auf einzelne biologische Zellen beschränkt. Vielmehr umfasst dieser Begriff auch allgemein synthetische oder biologische Partikel. Besondere Vorteile ergeben sich, wenn die Partikel biologische Materialien, also beispielsweise biologische Zellen, Zellgruppen, Zellbestandteile oder biologisch relevante Makromoleküle jeweils ggf. im Verbund mit anderen biologischen Partikeln oder synthetischen Trägerpartikeln umfassen. Synthetische Partikel können feste Partikel, flüssige, vom Suspensionsmedium abgegrenzte Teilchen oder Mehrphasenpartikel umfassen, die gegenüber dem Suspensionsmedium, d.h. der Trägerflüssigkeit, eine getrennte Phase bilden.

30

Darüber hinaus ist die Erfindung hinsichtlich der Untersuchung der Partikel nicht auf die eingangs erwähnte Impedanzspektroskopie beschränkt, sondern auch mit anderen Untersu-

chungsmethoden realisierbar, welche die Partikel einer elektrischen Messung unterziehen.

Die räumliche Fixierung der zu untersuchenden Partikel während der Untersuchung erfolgt vorzugsweise durch einen Feldkäfig, der die zu untersuchenden Partikel einem Kraftfeld aussetzt und dadurch fixiert. Bei dem Feldkäfig handelt es sich vorzugsweise um einen dielektrophoretischen Feldkäfig, der mehrere Käfigelektroden aufweist. Der Aufbau und die Funktionsweise eines derartigen dielektrophoretischen Feldkäfigs ist an sich bekannt und beispielsweise in MÜLLER, T. et al.: "A 3-D-Microelectrode system for handling and caging single cells and particles", Biosensors and Bioelectronics 14(1999), 247-256 beschrieben. Der Inhalt dieser Veröffentlichung ist der vorliegenden Beschreibung in vollem Umfang zuzurechnen, so dass im Folgenden auf eine detaillierte Beschreibung des Aufbaus und der Funktionsweise des dielektrophoretischen Feldkäfigs verzichtet werden kann.

In einer Variante der Erfindung weist der Feldkäfig mehrere Käfigelektroden auf, wobei mindestens eine der Käfigelektroden auch eine Messelektrode für die elektrische Messung an den Partikeln ist. Dies bietet den Vorteil, dass keine zusätzlichen Messelektroden erforderlich sind, da die ohnehin vorhandenen Käfigelektroden des Feldkäfigs zusätzlich die Funktion der Messelektroden übernehmen.

Beispielsweise kann der Feldkäfig acht Käfigelektroden aufweisen, von denen vier als Messelektroden dienen können. Vorzugsweise sind die acht Käfigelektroden hierbei jeweils an den Eckpunkten eines Quaders angeordnet. Als Messelektroden dienen hierbei vorzugsweise die Käfigelektroden, die an den Eckpunkten der unten liegenden Grundfläche des Quaders angeordnet sind. Bei der Messung kann der zu untersuchende Parti-

kel dann in dem Trägerstrom nach unten in randnahe Bereiche bewegt und dort untersucht werden.

Es ist jedoch alternativ auch möglich, dass der Feldkäfig lediglich fünf Käfigelektroden aufweist, die jeweils an den Eckpunkten einer Pyramide angeordnet sind, wobei die an den Eckpunkten der Grundfläche der Pyramide angeordneten Käfigelektroden vorzugsweise als Messelektroden dienen.

Darüber hinaus besteht auch die Möglichkeit, dass der Feldkäfig lediglich vier Käfigelektroden aufweist, die vorzugsweise in einer Ebene angeordnet sind. Eine derartige Anordnung ist beispielsweise aus FUHR, G. et al.: "Levitation, holding and rotation of cells within traps made by high-frequency fields", Biochim. Biophys Act. 1108 bekannt, so dass der Inhalt dieser Druckschrift der vorliegenden Beschreibung in vollem Umfang zuzurechnen ist. Die Käfigelektroden sind hierbei vorzugsweise an den Eckpunkten eines Rechtecks angeordnet. Hierbei wird der zu untersuchende Partikel vorzugsweise mittels positiver Dielectrophorese in den Feldkäfig hineingezogen, ggf. mittels negativer Dielectrophorese zentriert und u.U. anschließend vermessen.

Alternativ kann der Partikel über negative Dielectrophorese und Sedimentation am Boden und zentral zwischen den Elektroden fixiert werden.

Hierbei ist zu erwähnen, dass der Partikel bei alleiniger Anwendung von positiver Dielectrophorese an mindestens einer Elektrode anhaften könnte, was jedoch unkritisch ist, wenn der Elektrodenabstand hinreichend groß ist.

Ferner kann der Feldkäfig auch zwei Ringelektroden zum Fangen der Partikel aufweisen. Eine derartige Anordnung ist bei-

spielsweise aus SCHNELLE, Th. et al.: "Trapping of viruses in high frequency electric field cages", Naturwiss. 83, 172-176 (1996) bekannt, so dass der Inhalt dieser Druckschrift der vorliegenden Beschreibung in vollem Umfang zuzurechnen ist.

5 Im Vergleich zu einem Feldkäfig mit acht Käfigelektroden werden hierbei die oberen vier Käfigelektroden und die unteren vier Käfigelektroden jeweils durch eine Ringelektrode ersetzt. Die Impedanzmessung erfolgt dann durch vier separate Messelektroden, die zur Stromeinspeisung bzw. zur Spannungsmessung dienen.

Der im Rahmen der Erfindung verwendete Begriff eines Feldkäfigs ist also allgemein zu verstehen und nicht auf die bekannten Anordnungen beschränkt, die beispielsweise in der 15 vorstehend erwähnten Veröffentlichung von MÜLLER, T. et al.: "A 3-D-Microelectrode system for handling and caging single cells and particles" beschrieben sind. Vielmehr umfasst der Begriff eines Feldkäfigs im Sinne der Erfindung alle Elektrodenanordnungen, die geeignet sind, suspendierte Partikel in 20 einem Trägerstrom zu fixieren.

Bei der Impedanzspektroskopie wird vorzugsweise ein Strom mit einer vorgegebenen, einstellbaren Frequenz eingespeist, wobei die resultierende Spannung über den zu vermessenden Partikel 25 gemessen wird. Die Stromeinspeisung und die Spannungsmessung erfolgt hierbei vorzugsweise diagonal durch den Feldkäfig. Der Strompfad und/oder der Spannungspfad für die impedanzspektroskopische Messung verläuft also vorzugsweise diagonal durch den Feldkäfig.

30

Weiterhin ist zu erwähnen, dass die Käfigelektroden vorzugsweise mit einem elektrischen Fangsignal zur Fixierung der Partikel angesteuert, wohingegen an die Messelektroden ein elektrisches Messsignal angelegt wird, wobei das Fangsignal

vorzugsweise eine andere Frequenz aufweist als das Messsignal. Die Frequenz des Fangsignals kann hierbei wahlweise größer oder kleiner als die Frequenz des Messsignals sein. Bei dem Messsignal kann es sich beispielsweise um einen Strom handeln, der im Bereich des fixierten Partikels eingeprägt wird, wobei zusätzlich die Spannung gemessen wird, die sich beispielsweise quer oder parallel zu dem eingeprägten Strom einstellt. In der Praxis erfolgt die Messung der Spannung jedoch voraussichtlich so, dass der Strompfad und der Spannungspfad zueinander angewinkelt sind und vorzugsweise spitzwinklig zueinander verlaufen.

In einer anderen Variante der Erfindung dienen die Käfigelektroden dagegen nicht zusätzlich als Messelektroden, so dass zusätzlich zu den Käfigelektroden separate Messelektroden vorgesehen sind, wobei die Messelektroden galvanisch von den Käfigelektroden getrennt und unabhängig von den Käfigelektroden ansteuerbar sind.

Hierbei können die Käfigelektroden jeweils paarweise gegenphasig angesteuert werden, wobei die Messelektroden vorzugsweise in einer Ebene angeordnet sind, die mittig zwischen zwei gegenphasig angesteuerten Käfigelektroden angeordnet ist. Diese Anordnung der Messelektroden bietet den Vorteil, dass die Ansteuerung der Käfigelektroden die Messung nicht verfälscht, da sich die Signale der benachbarten, gegenphasig angesteuerten Käfigelektroden am Ort der dazwischen befindlichen Messelektroden gegenseitig auslöschen.

Zur Vermeidung eines störenden elektrischen Übersprechens von den Käfigelektroden auf die Messelektroden ist es jedoch nicht zwingend erforderlich, dass die Messelektroden exakt mittig zwischen den gegenphasig angesteuerten Käfigelektroden angeordnet sind, so dass sich die Signale der Käfigelektroden

am Ort der Messelektroden gegenseitig auslöschen. Es ist vielmehr ausreichend, wenn die Messelektroden in Bezug auf die Käfigelektroden so angeordnet sind, dass die Ansteuerung der Käfigelektroden das elektrische Potential der Messelektroden gleichermaßen beeinflusst, so dass sich die beiden Messelektroden unabhängig von der Ansteuerung der Käfigelektroden stets auf demselben Potential des Fangfeldes befinden. Die Spannungsmessung zwischen den Messelektroden wird dann durch das von dem Feldkäfig erzeugte Feld nicht beeinflusst.

10

Vorzugsweise sind die Messelektroden hierbei in einer Messebene angeordnet, wobei die Messebene der Messelektroden beispielsweise im Wesentlichen rechtwinklig zur Strömungsrichtung der Trägerflüssigkeit ausgerichtet sein kann. Es ist jedoch alternativ auch möglich, dass die Messebene der Messelektroden im Wesentlichen parallel zur Strömungsrichtung der Trägerflüssigkeit ausgerichtet ist. Die Erfindung ist jedoch hinsichtlich der Ausrichtung der Messebene der Messelektroden nicht auf die beiden vorstehend beschriebenen Möglichkeiten beschränkt, sondern auch mit anderen Ausrichtungen der Messebene realisierbar.

25

Vorzugsweise umfasst die erfindungsgemäße Messeinrichtung auch eine Steuerschaltung zur elektrischen Ansteuerung der Käfigelektroden, um die zu untersuchenden Partikel in dem Feldkäfig zu fixieren. Die Funktionsweise der Fixierung von Partikeln in einem dielektrophoretischen Feldkäfig ist beispielweise in SCHNELLE et al.: "Trapping in AC octode field cages" (Journal of Electrostatics 50: 17-29) beschrieben. Der Inhalt dieser Veröffentlichung ist deshalb der vorliegenden Beschreibung in vollem Umfang zuzurechnen, so dass zur Vermeidung von Wiederholungen auf eine detaillierte Beschreibung der Funktionsweise der dielektrophoretischen Fixierung von Partikeln verzichtet werden kann.

Darüber hinaus umfasst die erfindungsgemäße Messeinrichtung vorzugsweise auch eine Messschaltung, die mit den Mess-
elektroden verbunden ist, wobei hinsichtlich des Aufbaus
5 und der Funktionsweise einer derartigen Messschaltung auf die bereits vorstehend erwähnte Veröffentlichung von COSTER et al. verwiesen wird.

Die Verbindung der Käfigelektroden mit der Steuerschaltung
10 und der Messschaltung erfolgt vorzugsweise über ein steuerbares Schaltfeld, das die Käfigelektroden wahlweise mit der Messschaltung oder der Steuerschaltung verbindet.

Eine derartige Zwischenschaltung eines steuerbaren Schaltfeldes ist insbesondere dann sinnvoll, wenn die Käfigelektroden
15 auch als Messelektroden dienen.

Darüber hinaus ermöglicht ein steuerbares Schaltfeld zwischen den Käfigelektroden und der Messschaltung auch eine Messung
20 an verschiedenen Käfigelektroden. Beispielsweise kann bei der Impedanzspektroskopie der zur Messung dienende Strom mittels des Schaltfeldes an verschiedenen Käfigelektroden eingeprägt werden.

25 Ferner ermöglicht ein derartiges Schaltfeld auch eine Abtrennung der niederimpedanten Steuerschaltung von dem Feldkäfig während der Messung, um hochimpedante Messstellen zu erhalten.

30 Weiterhin ist zu erwähnen, dass die Erfindung nicht auf die vorstehend beschriebene erfindungsgemäße Messeinrichtung beschränkt ist, sondern auch ein mikrofluidisches System mit einer derartigen Messeinrichtung sowie einen Zellsortierer mit einem derartigen mikrofluidischen System umfasst.

Ferner umfasst die Erfindung auch ein entsprechendes Verfahren, was sich bereits aus der vorstehenden Beschreibung ergibt.

5

Vorzugsweise erfolgt im Rahmen des erfindungsgemäßen Messverfahrens neben der eigentlichen Messung an den zu untersuchenden Partikeln auch eine Referenzmessung, die beispielsweise mit leerem Feldkäfig durchgeführt werden kann, wobei das Ergebnis der Referenzmessung anschließend mit dem Ergebnis der eigentlichen elektrischen Messung an den zu untersuchenden Partikeln verglichen oder damit korreliert wird. Auf diese Weise lässt sich vorteilhaft der Signalanteil herausfiltern, der als Nutzsignal die elektrischen Eigenschaften der zu untersuchenden Partikel wiedergibt, wohingegen der Störanteil weggefiltert wird, der durch die Messanordnung und insbesondere durch den Trägerstrom verursacht wird.

Andere vorteilhafte Weiterbildungen der Erfindung sind in den Unteransprüchen gekennzeichnet oder ergeben sich aus der folgenden Beschreibung der bevorzugten Ausführungsbeispiele der Erfindung in Verbindung mit den Zeichnungen. Es zeigen:

25

Figur 1a eine vereinfachte Perspektivansicht eines Trägerstromkanals mit einem darin angeordneten dielektrophoretischen Feldkäfig,

30

Figur 1b eine schematische Ansicht zur Verdeutlichung der geometrischen Anordnung der Käfigelektroden bei dem Feldkäfig in Figur 1a,

Figur 2a eine vereinfachte Perspektivansicht eines Trägerstroms mit einem alternativen Ausführungs-

beispiel eines dielektrophoretischen Feldkäfigs mit zusätzlichen Messelektroden,

Figur 2b

5

eine schematische Darstellung zur Verdeutlichung der geometrischen Anordnung der Käfigelektroden und der Messelektroden bei dem Ausführungsbeispiel gemäß Figur 2a,

Figur 3a

10

ein Ausführungsbeispiel einer erfindungsgemäßen Messeinrichtung mit dem Feldkäfig gemäß den Figuren 1a und 1b,

Figur 3b

15

ein alternatives Ausführungsbeispiel einer erfindungsgemäßen Messeinrichtung für den Feldkäfig in den Figuren 2a und 2b,

Figur 4a

20

eine vereinfachte Perspektivansicht eines Trägerstromkanals mit einem dielektrophoretischen Feldkäfig mit fünf Käfigelektroden,

Figur 4b

25

eine schematische Darstellung zur Verdeutlichung der geometrischen Anordnung der Käfigelektroden bei dem Ausführungsbeispiel gemäß Figur 4a,

Figur 5

30

eine schematische Darstellung eines Feldkäfigs mit vier separaten Messelektroden sowie

Figuren 6a, 6b eine Elektrodenanordnung mit vier Käfig- bzw. Messelektroden.

Die Perspektivansicht in Figur 1a zeigt einen Abschnitt eines Trägerstromkanals 1, in dem in Y-Richtung ein Trägerstrom mit darin suspendierten Partikeln fließt. Der Trägerstromkanal 1

ist hierbei Bestandteil eines mikrofluidischen Systems, das beispielsweise in einem Zellsortierer eingesetzt werden kann, wobei der Aufbau und die Funktionsweise des mikrofluidischen Systems und des Zellsortierers ansonsten herkömmlich ist und 5 deshalb nicht näher beschrieben wird.

In dem Trägerstromkanal 1 befindet sich ein dielektrophoretischer Feldkäfig mit acht Käfigelektroden 2.1-2.8, wobei die Spitzen der Käfigelektroden 2.1-2.8 jeweils an den Eckpunkten 10 eines Quaders mit einheitlicher Kantenlänge liegen. Der dielektrophoretische Feldkäfig ermöglicht eine Fixierung von Partikeln, die in dem Trägerstrom suspendiert sind, wobei die Funktionsweise des dielektrophoretischen Feldkäfigs beispielweise in den vorstehend erwähnten Veröffentlichungen 15 von MÜLLER, T. et al.: "A 3-D microelectrode system for handling and caging single cells and particles" und SCHNELLE et al.: "Trapping in AC Octode Field Cages" beschrieben ist, so dass hier auf eine detaillierte Beschreibung der Funktionsweise des dielektrophoretischen Feldkäfigs verzichtet werden 20 kann.

Die geometrische Anordnung der einzelnen Käfigelektroden 2.1-2.8 ist aus Figur 1b besonders gut ersichtlich, wobei der dielektrophoretische Feldkäfig einen Partikel 3 in seinem 25 Mittelpunkt fixiert. Neben den einzelnen Käfigelektroden 2.1-2.8 ist hierbei jeweils die Phasenlage angegeben, mit der die einzelnen Käfigelektroden 2.1-2.8 angesteuert werden.

Im folgenden wird nun anhand des vereinfachten Blockschaltbilds in Figur 3a der Aufbau und die Funktionsweise der erfindungsgemäßen Messeinrichtung beschrieben, wobei die Messeinrichtung einen dielektrophoretischen Feldkäfig 4 aufweist, wie er vorstehend unter Bezugnahme auf die Figuren 1a und 1b beschrieben wurde.

Die Käfigelektroden 2.1-2.8 des Feldkäfigs 4 sind über ein steuerbares Schaltfeld 5 mit einer Steuerschaltung 6 verbunden, die herkömmlich ausgebildet sein kann und die Käfig-
5 elektroden 2.1-2.8 so ansteuert, dass der Partikel 3 in dem Feldkäfig 4 gefangen und räumlich fixiert wird. Die Steuerschaltung 6 wird hierbei ihrerseits von einem Computer 7 angesteuert, um beispielsweise nur bestimmte Partikel 3 in dem Feldkäfig 4 zu fangen.

10

Darüber hinaus ermöglicht das steuerbare Schaltfeld 5 bei einer entsprechenden Ansteuerung durch den Computer 7 auch eine Verbindung der Käfigelektroden 2.1-2.8 mit einer Messschaltung 8 zur impedanzspektroskopischen Untersuchung des in dem
15 Feldkäfig 4 gefangenen Partikels 3. Die Messschaltung 8 kann weitgehend herkömmlich ausgebildet sein, so dass weitgehend auf die vorstehend erwähnte Veröffentlichung von COSTER et al.: "Impedance Spectroscopy of Interfaces, Membranes and Ultrastructures" verwiesen wird.

20

Eingangseitig ist die Messschaltung 8 mit einem Signalgenerator 9 verbunden, der wiederum von dem Computer 7 angesteuert wird und der Messschaltung 8 ein Spannungssignal U bereitstellt, dessen Frequenz zwischen 10^{-3} Hz und 1 GHz einstellbar ist und eine Amplitude im Bereich von 0-2 Volt aufweist.
25 Der bei der Impedanzspektroskopie tatsächlich durchfahrene Frequenzbereich hängt jedoch von der Größe der zu untersuchenden Partikel und deren Außenleitfähigkeit ab. Beispielsweise liegt der Frequenzbereich bei der Impedanzspektroskopie an Zellmembranen im Bereich von 0,01 Hz bis 100 kHz, wohingegen bei Messungen im Zellinneren auch Frequenzen im Megahertzbereich eingesetzt werden

Der Computer 7 steuert das Schaltfeld 5 so an, dass abwechselnd die Steuerschaltung 6 und die Messschaltung 8 mit dem Feldkäfig 4 verbunden wird, um den Partikel 3 in dem Feldkäfig 4 zu fixieren und zwischenzeitlich eine impedanzspektroskopische Untersuchung des Partikels 3 im fixierten Zustand durchzuführen.

Für die impedanzspektroskopische Untersuchung verbindet das Schaltfeld 5 die Käfigelektroden 2.3 und 2.5 sowie 2.2 und 10 2.8 mit der Messschaltung 8.

Entsprechend dem von dem Signalgenerator 9 bereitgestellten Spannungssignal U prägt die Messschaltung 8 einen entsprechenden Strom in die Käfigelektrode 2.3 ein, wobei der Stromkreislauf über die gegenüberliegende Käfigelektrode 2.5 geschlossen wird. An den Käfigelektroden 2.2 und 2.8 misst die Messschaltung 8 dann die Spannung bei der jeweiligen Frequenz des von dem Signalgenerator 9 bereitgestellten Spannungssignals und gibt den Spannungswert an eine Datenerfassungsschaltung 10, welche die gemessene Spannung an den Computer 7 weiter leitet.

Darüber hinaus misst die Messschaltung 8 auch den über die Käfigelektroden 2.3 und 2.5 fließenden Strom und gibt diesen 25 an eine Datenerfassungsschaltung 11 aus, die ausgangsseitig ebenfalls mit dem Computer 7 verbunden ist.

Aus den gemessenen Strom- und Spannungswerten kann der Computer 7 dann bei einer entsprechenden Variation der Frequenz 30 des Signalgenerators 9 eine impedanzspektroskopische Messung vornehmen.

Die Käfigelektroden 2.3, 2.5, 2.2, 2.8 dienen hierbei also quasi bi-funktional als Messelektroden, so dass auf zusätzli-

che Messelektroden für die Durchführung der impedanzspektroskopischen Messung verzichtet werden kann.

Weiterhin ist es vorteilhaft, dass das Schaltfeld 5 die Messschaltung 8 auch mit anderen Käfigelektroden als Messelektroden verbinden kann, um zusätzliche Informationen zu gewinnen.

Das in den Figuren 2a und 2b dargestellte Ausführungsbeispiel eines Trägerstromkanals mit einem darin befindlichen dielectrophoretischen Feldkäfig stimmt weitgehend mit den Figuren 1a und 1b überein, so dass zur Vermeidung von Wiederholungen auf die vorstehende Beschreibung verwiesen wird und für entsprechende Bauteile dieselben Bezugszeichen verwendet werden.

Eine Besonderheit dieses Ausführungsbeispiels besteht jedoch darin, dass die impedanzspektroskopische Untersuchung nicht mittels der Käfigelektroden 2.1-2.8 erfolgt. Vielmehr sind hierbei für die impedanzspektroskopische Untersuchung vier separate Messelektroden 12.1-12.4 vorgesehen.

20

Die Messelektroden 12.1-12.4 liegen hierbei in einer Ebene und sind jeweils mittig zwischen zwei benachbarten Käfigelektroden angeordnet. Dies ist vorteilhaft, weil die benachbarten Käfigelektroden 2.1-2.8 jeweils paarweise gegenphasig angesteuert werden. So werden hierbei die Käfigelektroden 2.1, 2.5, 2.3, 2.7 einerseits und die Käfigelektroden 2.2, 2.6, 2.4, 2.8 andererseits gegenphasig angesteuert. Dies ist vorteilhaft, weil sich die an den Käfigelektroden 2.1-2.8 anliegenden elektrischen Signale zum Fangen des Partikels 3 in dem Feldkäfig 4 auf diese Weise am Ort der Messelektroden 12.1-12.4 gegenseitig auslöschen, so dass zwischen den Käfigelektroden 2.1-2.8 und den Messelektroden 12.1-12.4 keine elektrischen Störungen auftreten.

Weiterhin ist zu erwähnen, dass die Messelektroden 12.1-12.4 hierbei in einer Messebene angeordnet sind, die rechtwinklig zur Strömungsrichtung in dem Trägerstromkanal 1 ausgerichtet ist. Es ist jedoch alternativ möglich, dass die Messelektroden 12.1-12.4 in einer anders ausgerichteten Messebene liegen.

Das in Figur 3b dargestellte Ausführungsbeispiel einer erfindungsgemäßen Messeinrichtung stimmt weitgehend mit dem vorstehend beschriebenen und in Figur 3a dargestellten Ausführungsbeispiel überein, so dass zur Vermeidung von Wiederholungen weitgehend auf die vorstehende Beschreibung verwiesen wird und im folgenden für entsprechende Bauteile dieselben Bezugszeichen verwendet werden.

15

Die Messeinrichtung gemäß Figur 3b dient jedoch zur Ansteuerung des in den Figuren 2a und 2b dargestellten Trägerstromkanals mit dem darin befindlichen Feldkäfig 4.

20 Aufgrund der Trennung der Käfigelektroden 2.1-2.8 von den Messelektroden 12.1-12.4 kann die Steuerschaltung 6 hierbei dauerhaft mit dem Feldkäfig 4 verbunden sein.

25 Das steuerbare Schaltfeld 5 hat hierbei also lediglich den Zweck, bestimmte Messelektroden 12.1-12.4 zur Strom einspeisung bzw. Spannungsmessung auszuwählen.

Schließlich zeigen die Figuren 4a und 4b eine alternative Gestaltung eines Trägerstromkanals 1 mit einem darin befindlichen Feldkäfig, wobei auch dieses Ausführungsbeispiel weitgehend mit den vorstehend beschriebenen und in den Figuren 1a, 1b, 2a und 2b dargestellten Ausführungsbeispielen übereinstimmt. Zur Vermeidung von Wiederholungen wird deshalb weitgehend auf die vorstehende Beschreibung verwiesen, wobei

im Folgenden für entsprechende Bauteile dieselben Bezugszeichen verwendet werden.

Eine Besonderheit dieses Ausführungsbeispiels besteht darin,
5 dass der Feldkäfig 4 lediglich fünf Käfigelektroden 2.1-2.5 aufweist, die jeweils an den Eckpunkten einer Pyramide liegen, wie insbesondere aus Figur 4b ersichtlich ist.

Auch der Feldkäfig gemäß Figur 4a ermöglicht jedoch eine Fixierung von Partikeln 3, um diese einer impedanzspektroskopischen Untersuchung unterziehen zu können.

Die Käfigelektroden 2.1-2.4 dienen hierbei zusätzlich als Messelektroden für die impedanzspektroskopische Untersuchung,
15 so dass auf zusätzliche Messelektroden verzichtet werden kann.

Das in Figur 5 schematisch dargestellte Ausführungsbeispiel eines Feldkäfigs stimmt weitgehend mit dem vorstehend beschriebenen und in Figur 2b dargestellten Ausführungsbeispiel überein, so dass zur Vermeidung von Wiederholungen weitgehend auf die vorstehende Beschreibung zu Figur 2b verwiesen wird, wobei im Folgenden für entsprechende Bauteile dieselben Bezugszeichen verwendet werden.

25

Eine Besonderheit dieses Ausführungsbeispiels besteht darin, dass die Messelektroden 12.1-12.4 nicht exakt mittig zwischen jeweils zwei benachbarten Käfigelektroden angeordnet sind. Vielmehr liegen die Messelektroden 12.1-12.4 hierbei lediglich in einer gemeinsamen Messebene, die mittig zwischen den gegenphasig angeordneten Käfigelektroden 2.3, 2.7, 2.2, 2.6 einerseits und 2.1, 2.5, 2.4, 2.8 andererseits verläuft. Auch auf diese Weise wird sichergestellt, dass sich die Messelekt-

roden 12.1-12.4 einerseits und die Käfigelektroden 2.1-2.8 andererseits elektrisch gegenseitig nicht stören.

Schließlich stimmt das in den Figuren 6a und 6b dargestellte
5 Ausführungsbeispiel weitgehend mit dem vorstehend beschriebenen und in den Figuren 4a und 4b dargestellten Ausführungsbeispiel überein, so dass zur Vermeidung von Wiederholungen weitgehend auf die vorstehende Beschreibung zu den Figuren 4a und 4b verwiesen wird, wobei im Folgenden für entsprechende
10 Bauteile dieselben Bezugszeichen verwendet werden.

Eine Besonderheit dieses Ausführungsbeispiels besteht darin, dass lediglich vier Käfigelektroden 2.1-2.4 vorgesehen sind, wobei die Käfigelektroden 2.1, 2.3 einerseits und die Käfig-
15 elektroden 2.2, 2.4 andererseits gegenphasig angesteuert werden, wie aus den eingezzeichneten Phasenlagen ersichtlich ist.

Durch positive Dielektrophorese (pDEP) oder Elektrophorese wird der zu untersuchende Partikel 3 dann vorzugsweise in den
20 Mittelpunkt der Käfigelektroden 2.1-2.4 hineingezogen und dann entsprechend Figur 6b durch Impedanzspektroskopie untersucht.

Der zu untersuchende Partikel kann zur Impedanzmessung durch
25 Überlagerung von negativer Dielektrophorese und Sedimentation zentral zwischen den Elektroden fixiert werden. Alternativ kann der Partikel mittels positiver Dielektrophorese in den Käfigbereich gezogen werden. Beide Verfahren können unter Verwendung verschiedener Fangfrequenzen und ggf. Phasenlagen
30 an den Elektroden kombiniert verwendet werden.

Die Erfindung ist nicht auf die vorstehend beschriebenen bevorzugten Ausführungsbeispiele beschränkt. Vielmehr ist eine Vielzahl von Varianten und Abwandlungen möglich, die eben-

falls von dem Erfindungsgedanken Gebrauch machen und deshalb in den Schutzbereich fallen.

16332

Bezugszeichenliste:

- 1 Trägerstromkanal
- 2.1-2.8 Käfigelektroden
- 3 Partikel
- 4 Feldkäfig
- 5 Schaltfeld
- 6 Steuerschaltung
- 7 Computer
- 8 Messschaltung
- 9 Signalgenerator
- 10 Datenerfassungsschaltung
- 11 Datenerfassungsschaltung
- 12.1-12.4 Messelektroden

* * * * *

ANSPRÜCHE

5 1. Messeinrichtung zur Untersuchung von Partikeln (3), die
 in einer Trägerflüssigkeit suspendiert sind, mit mehreren
 Messelektroden (12.1-12.4) zur Durchführung einer elektri-
 schen Messung an den Partikeln (3), **gekennzeichnet durch** ei-
 nen Feldkäfig (4) zur Fixierung der Partikel (3) für die e-
10 lektrische Messung.

2. Messeinrichtung nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeich-**
net, dass der Feldkäfig (4) mehrere Käfigelektroden (2.1-2.8)
aufweist, wobei mindestens eine der Käfigelektroden (2.1-2.8)
15 auch eine Messelektrode ist.

3. Messeinrichtung nach Anspruch 2, **dadurch gekennzeich-**
net, dass an den Käfigelektroden (2.1-2.8) ein elektrisches
Fangsignal zur Fixierung der Partikel (3) und an den Mess-
20 elektroden ein elektrisches Messsignal anlegt, wobei das
Fangsignal eine andere Frequenz aufweist als das Messsignal
und zeitlich vor, während oder nach dem Messsignal anlegt.

25 4. Messeinrichtung nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeich-**
net, dass der Feldkäfig (4) mehrere Käfigelektroden (2.1-2.8)
aufweist, wobei die Messelektroden (12.1-12.4) galvanisch von
den Käfigelektroden (2.1-2.8) getrennt und unabhängig vonein-
ander ansteuerbar sind.

30 5. Messeinrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprü-
 che, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Messelektroden (12.1-
 12.4) zwei Elektroden (12.2, 12.4) zur Stromeinspeisung und
 zwei Elektroden (12.1, 12.3) zur Spannungsmessung aufweisen.

6. Messeinrichtung nach Anspruch 5, **dadurch gekennzeichnet, dass** die zur Spannungsmessung dienenden Elektroden (12.1, 12.3) bezüglich der Käfigelektroden (2.1-2.8) so angeordnet sind, dass die Spannung zwischen den zur Spannungsmessung dienenden Elektroden (12.1, 12.3) durch das an den Käfigelektroden (2.1-2.8) anliegende Fangsignal nicht beeinflusst wird.

7. Messeinrichtung nach Anspruch 5 oder 6, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Käfigelektroden (2.1-2.8) paarweise gegenphasig angesteuert sind, wobei mindestens eine der Messelektroden (12.1-12.4) in einer Ebene angeordnet ist, die mittig zwischen zwei gegenphasig angesteuerten Käfigelektroden (2.1-2.8) verläuft.

8. Messeinrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Messelektroden (12.1-12.4) in einer Messebene angeordnet sind.

9. Messeinrichtung nach Anspruch 8, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Messebene der Messelektroden (12.1-12.4) im Wesentlichen rechtwinklig zur Strömungsrichtung der Trägerflüssigkeit ausgerichtet ist.

10. Messeinrichtung nach Anspruch 8, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Messebene der Messelektroden (12.1-12.4) im Wesentlichen parallel zur Strömungsrichtung der Trägerflüssigkeit ausgerichtet ist.

11. Messeinrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** zwischen einem Paar der Messelektroden (12.1-12.4) ein Strompfad und zwischen einem anderen Paar der Messelektroden (12.1-12.4) ein Spannungs-

messpfad verläuft, wobei der Spannungsmesspfad quer zu dem Strompfad verläuft.

12. Messeinrichtung nach Anspruch 11, **dadurch gekennzeichnet**,

5 **dass** der Strompfad und der Spannungspfad im Wesentlichen diagonal durch den Feldkäfig (4) verlaufen.

13. Messeinrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprü-

che, **dadurch gekennzeichnet, dass** die elektrische Messung ei-

10 ne Impedanzmessung umfasst.

14. Messeinrichtung nach Anspruch 13, **dadurch gekennzeichnet**,

15 **dass** die elektrische Messung eine Impedanzspektroskopie-

messung umfasst.

15. Messeinrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprü-

che, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Feldkäfig (4) ein di-
elektrophoretischer oder ein elektrophoretischer Feldkäfig
(4) ist.

20

16. Messeinrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprü-

che, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Feldkäfig (4) acht Kä-
figelektroden (2.1-2.8) aufweist, die an den Eckpunkten eines
Quaders angeordnet sind.

25

17. Messeinrichtung nach Anspruch 16, **dadurch gekennzeich-**

net, dass der Quader eine im Wesentlichen waagerechte untere
Grundfläche aufweist, wobei die Käfigelektroden (2.1-2.8) an
den vier Eckpunkten dieser Grundfläche die Messelektroden

30 bilden.

18. Messeinrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 15, **da-**

durch gekennzeichnet, dass der Feldkäfig (4) fünf Käfigelekt-

roden (2.1-2.5) aufweist, die jeweils an den Eckpunkten einer Pyramide angeordnet sind.

19. Messeinrichtung nach Anspruch 18, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Pyramide eine unten liegende Grundfläche aufweist, wobei die Käfigelektroden (2.1-2.5) an den vier Eckpunkten dieser Grundfläche die Messelektroden bilden.

20. Messeinrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Käfigelektroden (2.1-2.8) mit einer Steuerschaltung (6) verbunden sind, welche die Käfigelektroden (2.1-2.8) mit dem Fangsignal ansteuert.

21. Messeinrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Messelektroden (12.1-12.4) mit einer Messschaltung (8) verbunden sind.

22. Messeinrichtung nach Anspruch 20 und 21, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Käfigelektroden (2.1-2.8) über ein steuerbares Schaltfeld (5) mit der Messschaltung (8) und der Steuerschaltung (6) verbunden sind, wobei das Schaltfeld (5) wahlweise die Messschaltung (8) mit den Messelektroden (12.1-12.4) oder die Steuerschaltung (6) mit den Käfigelektroden (2.1-2.8) verbindet.

25

23. Mikrofluidisches System mit einer Messeinrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche.

24. Zellsortierer mit einem mikrofluidischen System nach Anspruch 23.

25. Messverfahren zur Untersuchung von Partikeln (3), die in einer Trägerflüssigkeit suspendiert sind, mit den folgenden Schritten:

- Durchführung einer elektrischen Messung an mindestens einem Partikel (3) mittels mehrerer Messelektroden (12.1-12.4),

gekennzeichnet durch folgenden Schritt:

5 - Fixierung des Partikels (3) in einem Feldkäfig (4) für die Messung.

26. Messverfahren nach Anspruch 25, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Feldkäfig (4) mehrere Käfigelektroden (2.1-2.8) aufweist und mehrere der Käfigelektroden (2.1-2.8) Messelektroden bilden, wobei über mindestens zwei der Messelektroden ein Messstrom eingespeist wird, während über mindestens zwei der Messelektroden eine Messspannung gemessen wird.

15 27. Messverfahren nach Anspruch 26, **dadurch gekennzeichnet, dass** an die Käfigelektroden (2.1-2.8) ein elektrisches Fangsignal zur Fixierung der Partikel (3) angelegt wird, wobei das Fangsignal eine andere Frequenz aufweist als der Messstrom.

20

28. Messverfahren nach einem der Ansprüche 25 bis 27, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Feldkäfig (4) mehrere Käfigelektroden (2.1-2.8) aufweist, wobei die Messelektroden (12.1-12.4) getrennt und unabhängig von den Käfigelektroden (2.1-2.8) angesteuert werden.

25

29. Messverfahren nach einem der Ansprüche 25 bis 28, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Käfigelektroden (2.1-2.8) paarweise gegenphasig angesteuert werden.

30

30. Messverfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** die elektrische Messung eine Impedanzmessung umfasst.

31. Messverfahren nach Anspruch 30, **dadurch gekennzeichnet, dass** die elektrische Messung eine Impedanzspektroskopimesung umfasst.

5 32. Messverfahren nach einem der Ansprüche 25 bis 31, **gekennzeichnet durch** folgende Schritte:

- Durchführung einer Referenzmessung,
- Vergleich des Ergebnisses der Referenzmessung mit dem Ergebnis der elektrischen Messung des Partikels (3).

10

33. Messverfahren nach Anspruch 32, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Referenzmessung mit leerem Feldkäfig (4) durchgeführt wird.

* * * * *

**Messeinrichtung zur Impedanzspektroskopie und
zugehöriges Messverfahren**

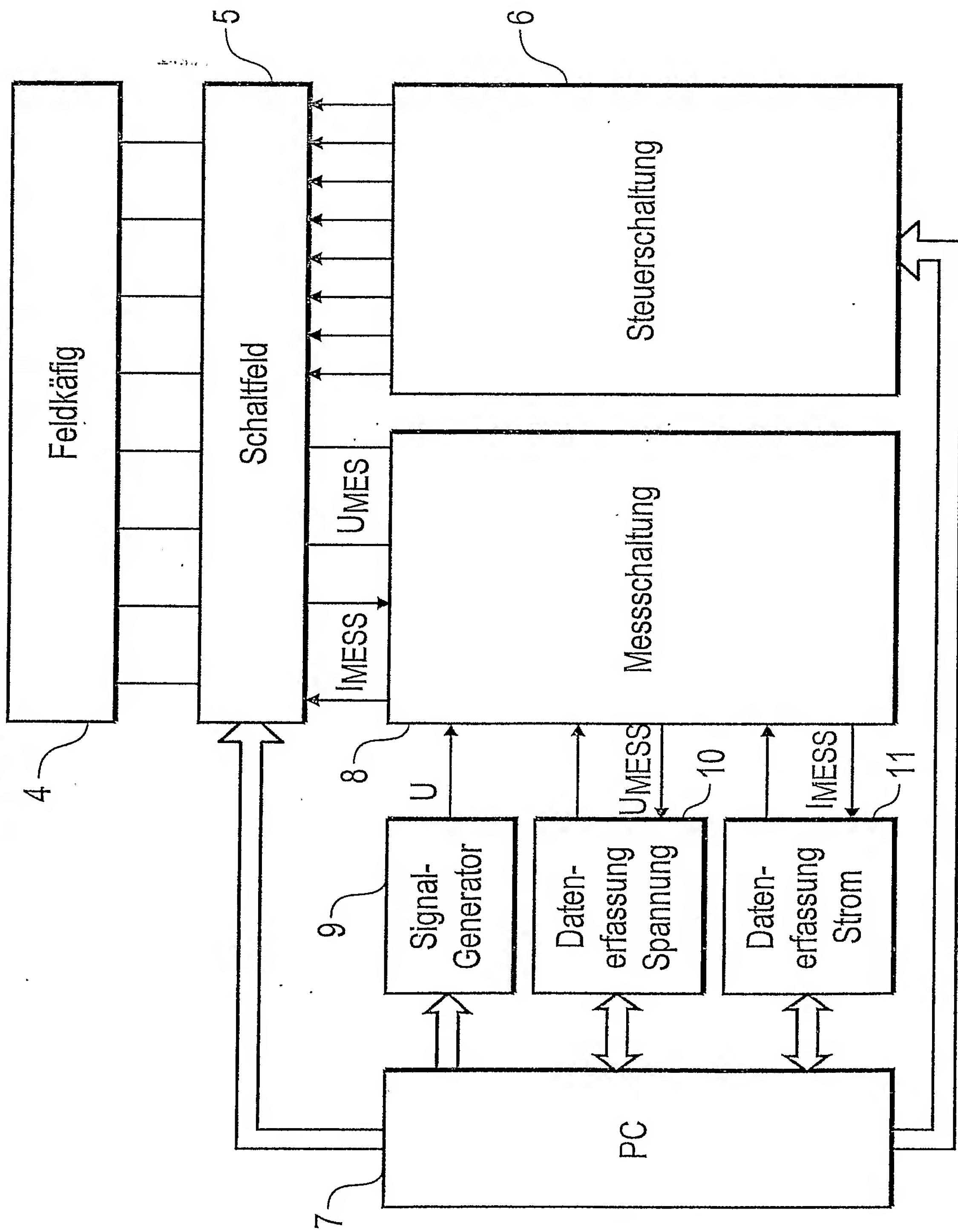
5

Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft eine Messeinrichtung und ein Messverfahren zur Untersuchung von Partikeln, die in einer Trägerflüssigkeit suspendiert sind, mit mehreren Messelektroden zur Durchführung einer elektrischen Messung an den Partikeln. Es wird vorgeschlagen, dass die Partikel während der elektrischen Messung in einem Feldkäfig (4) fixiert werden.

15 (Figur 3a)





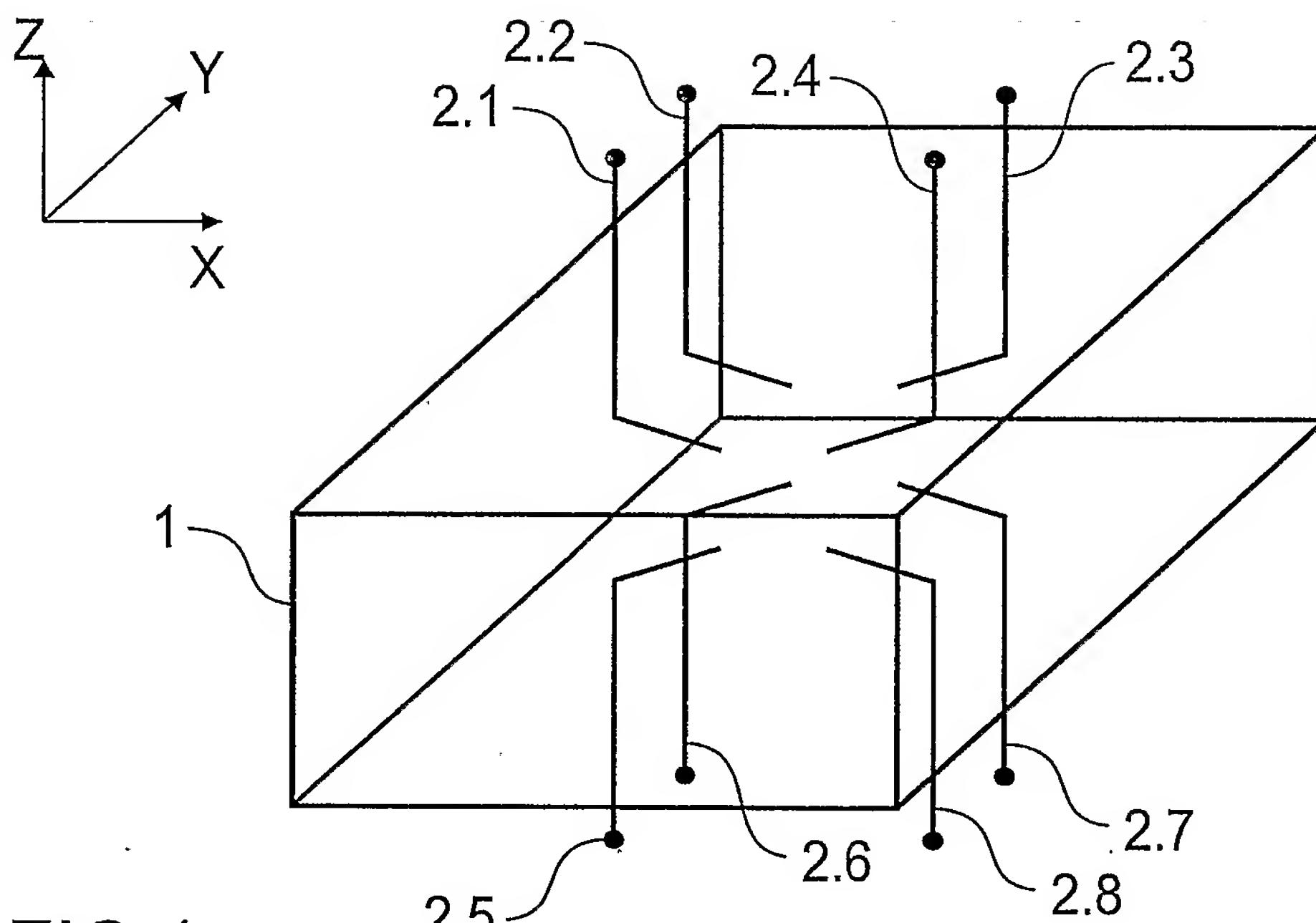


FIG 1a

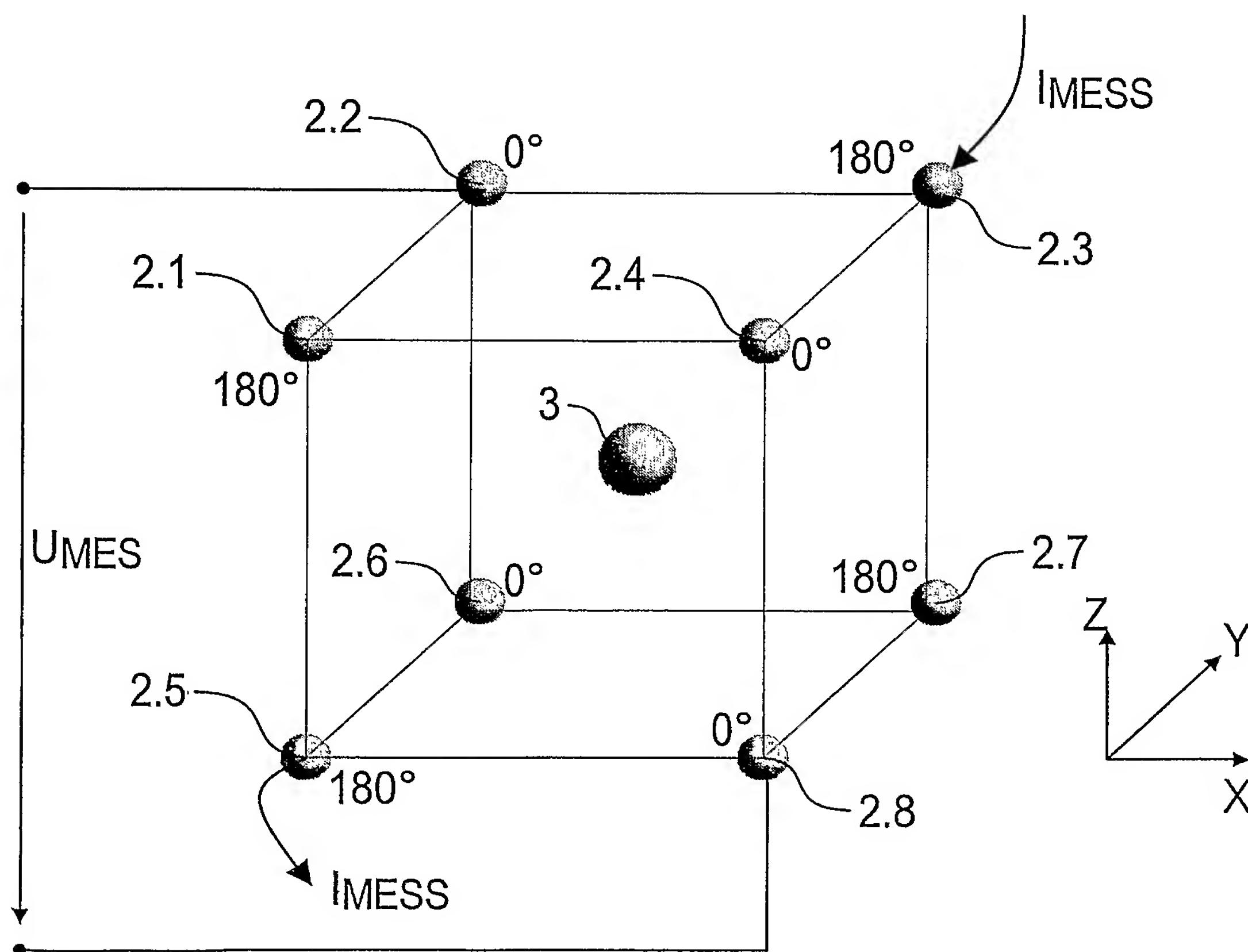


FIG 1b

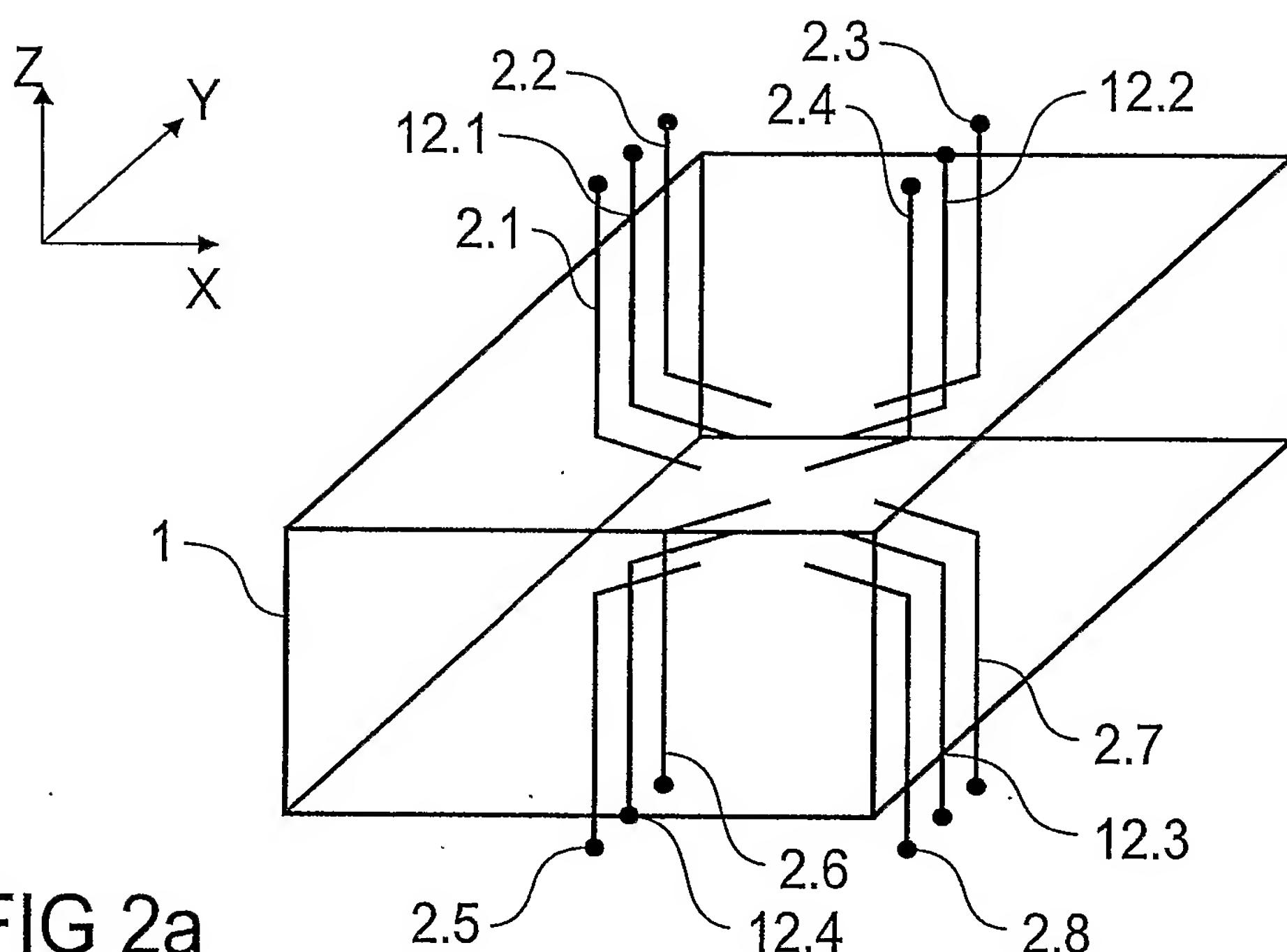


FIG 2a

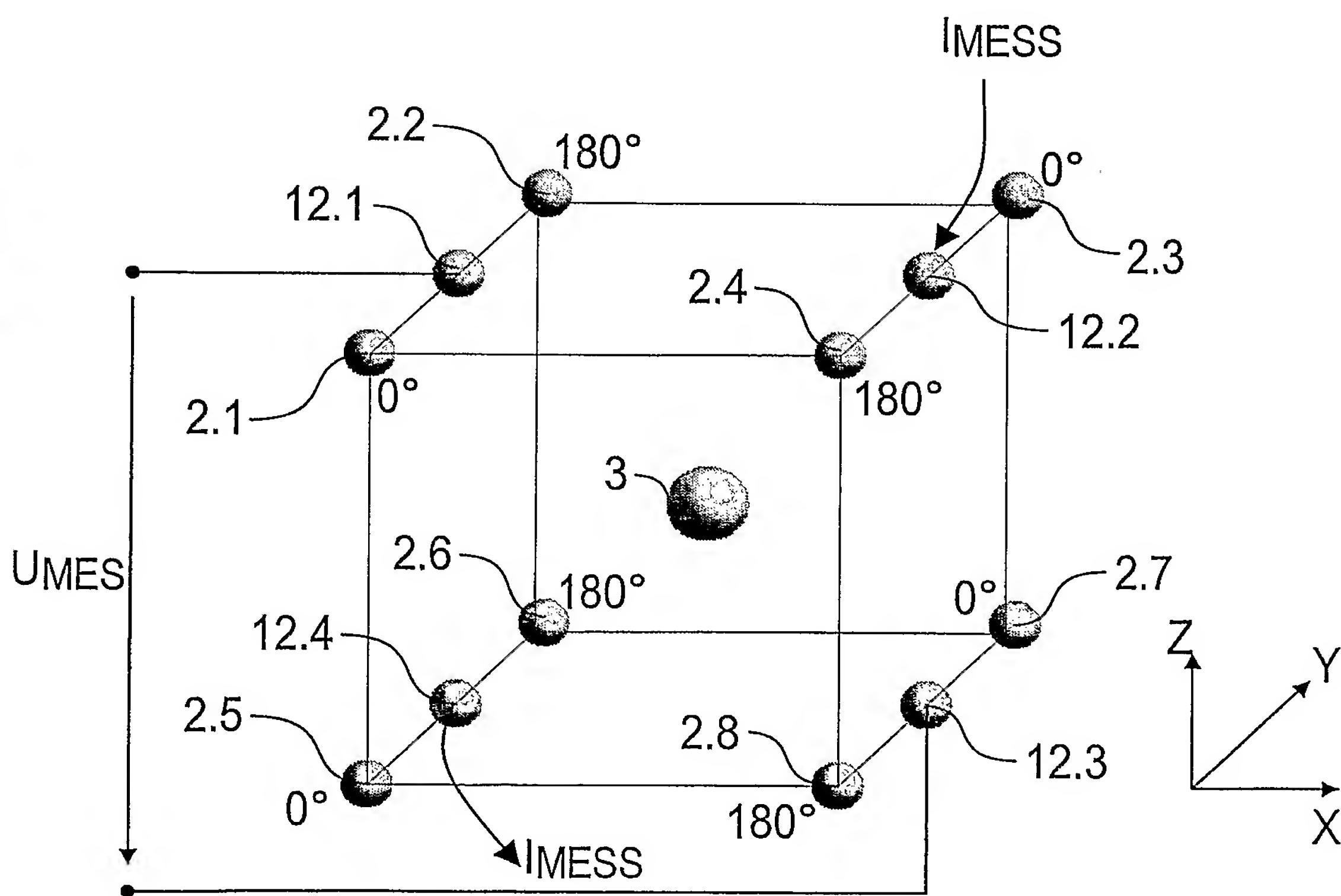


FIG 2b

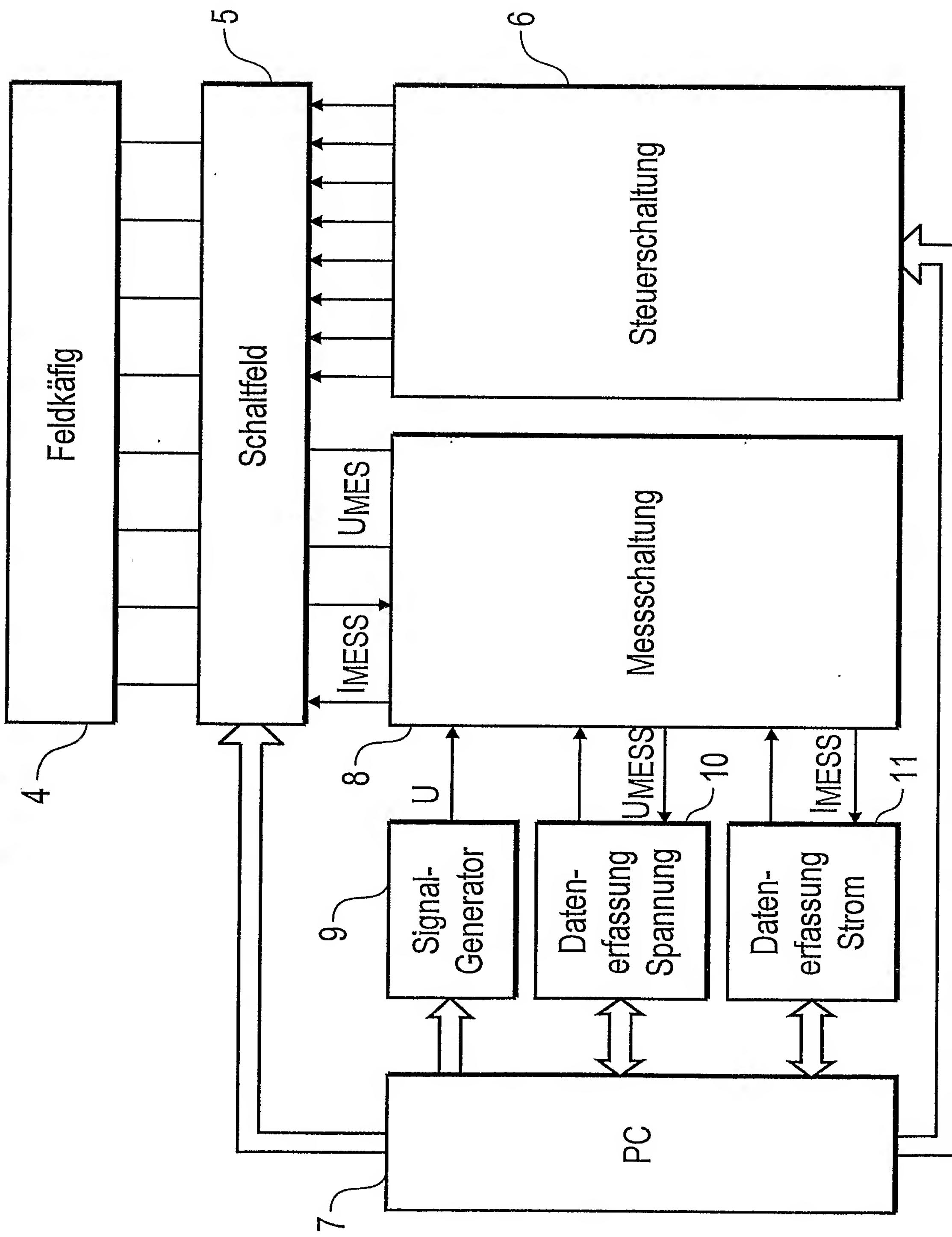


FIG 3a

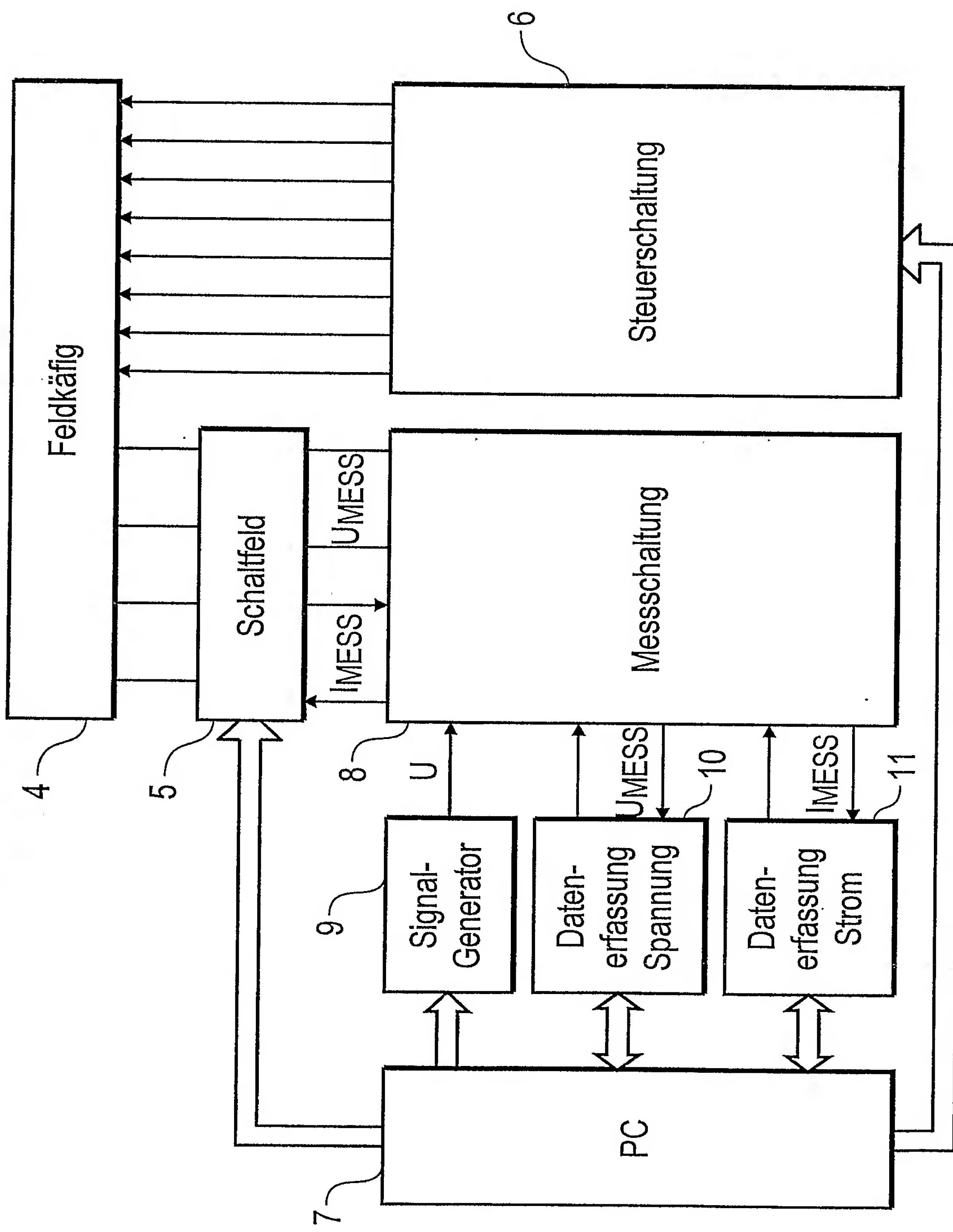


FIG 3b

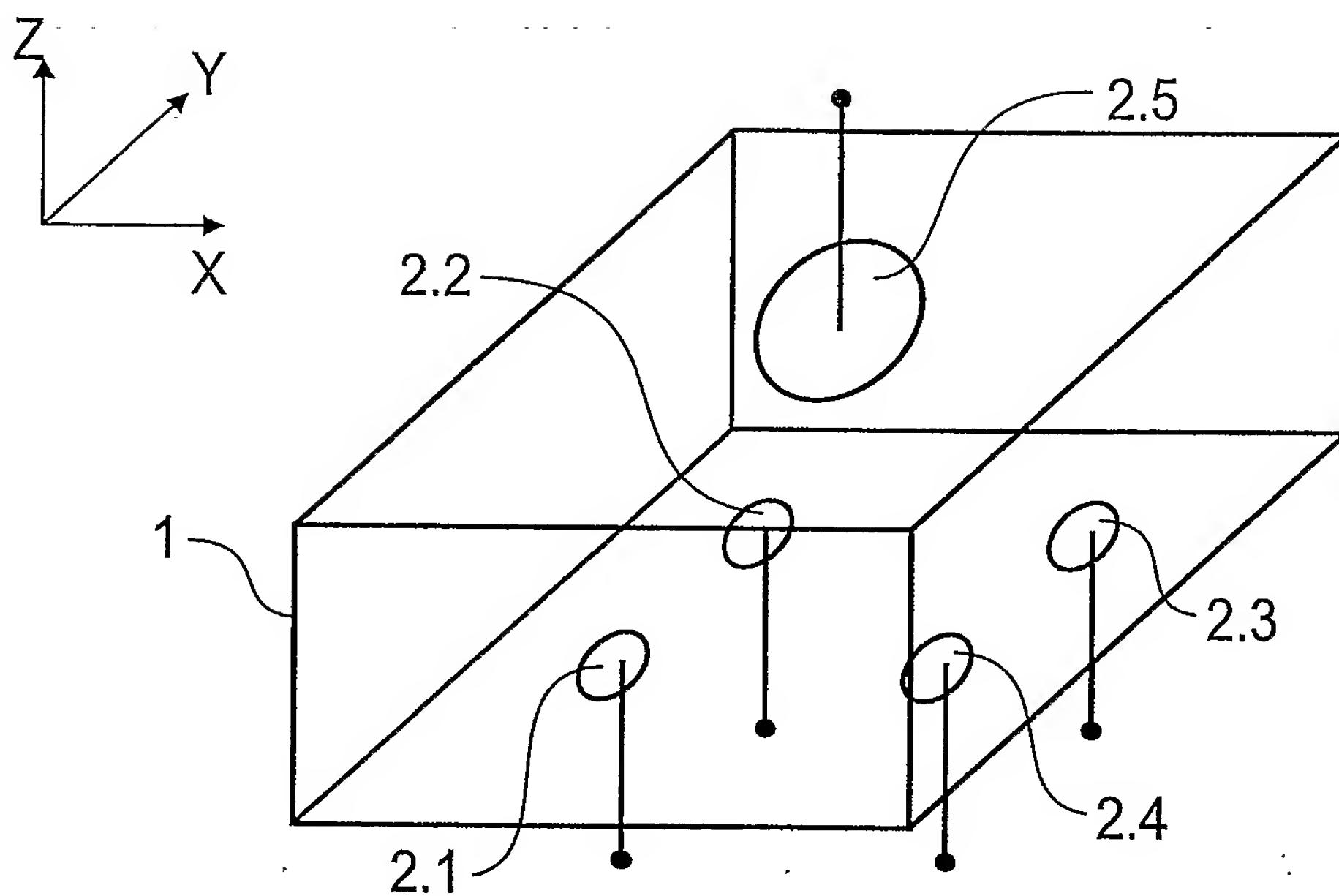


FIG 4a

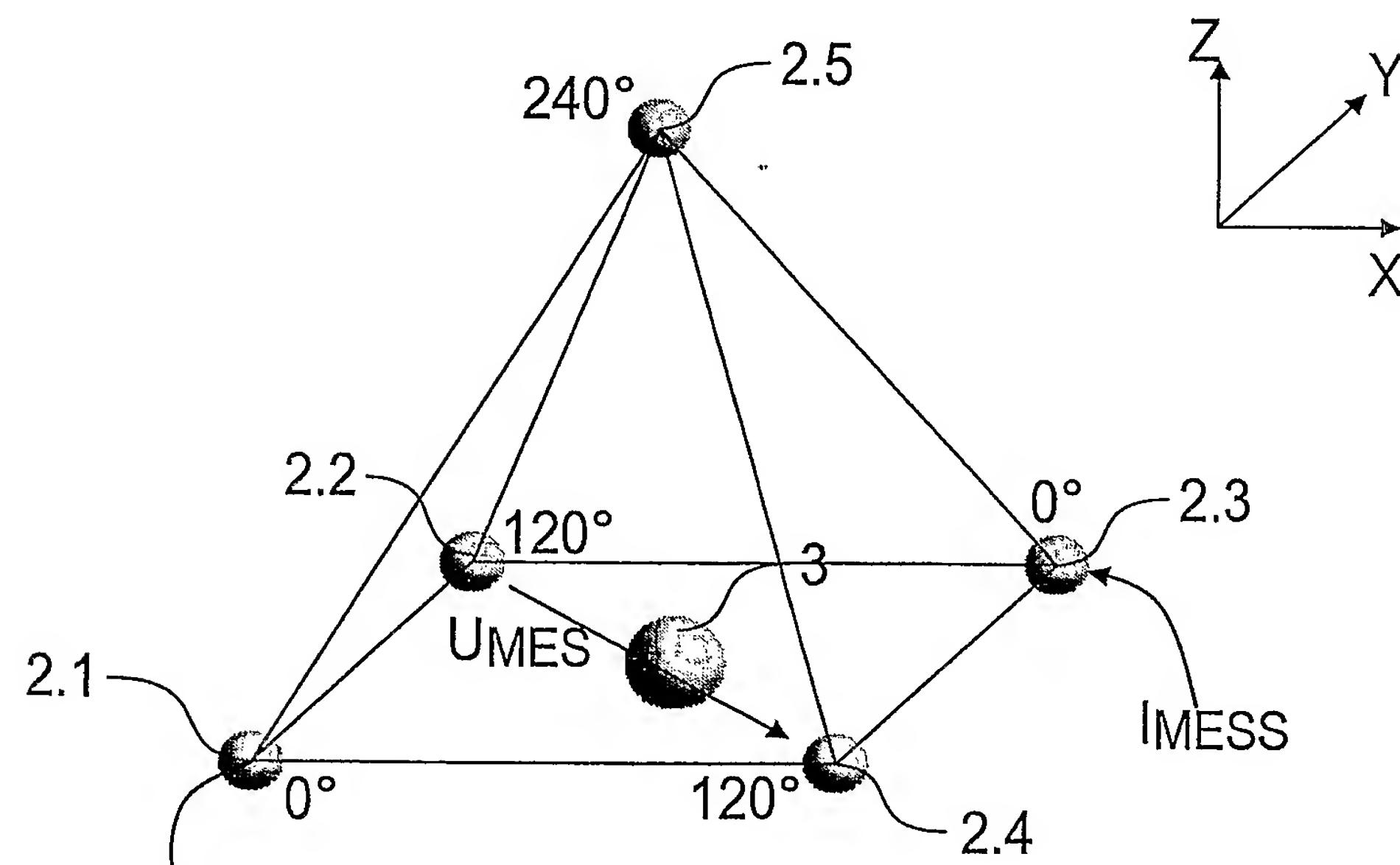


FIG 4b

6/6

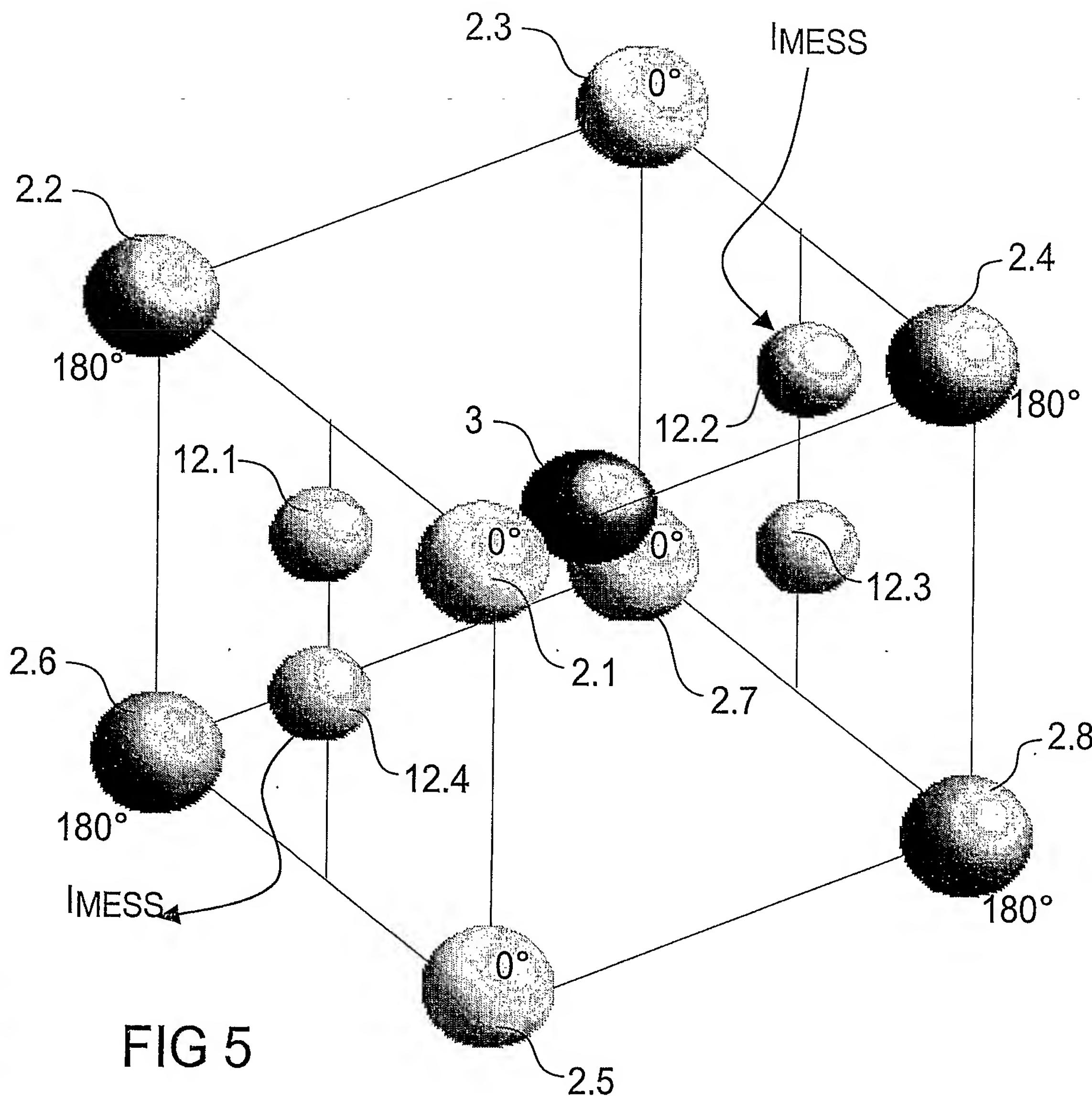


FIG 5

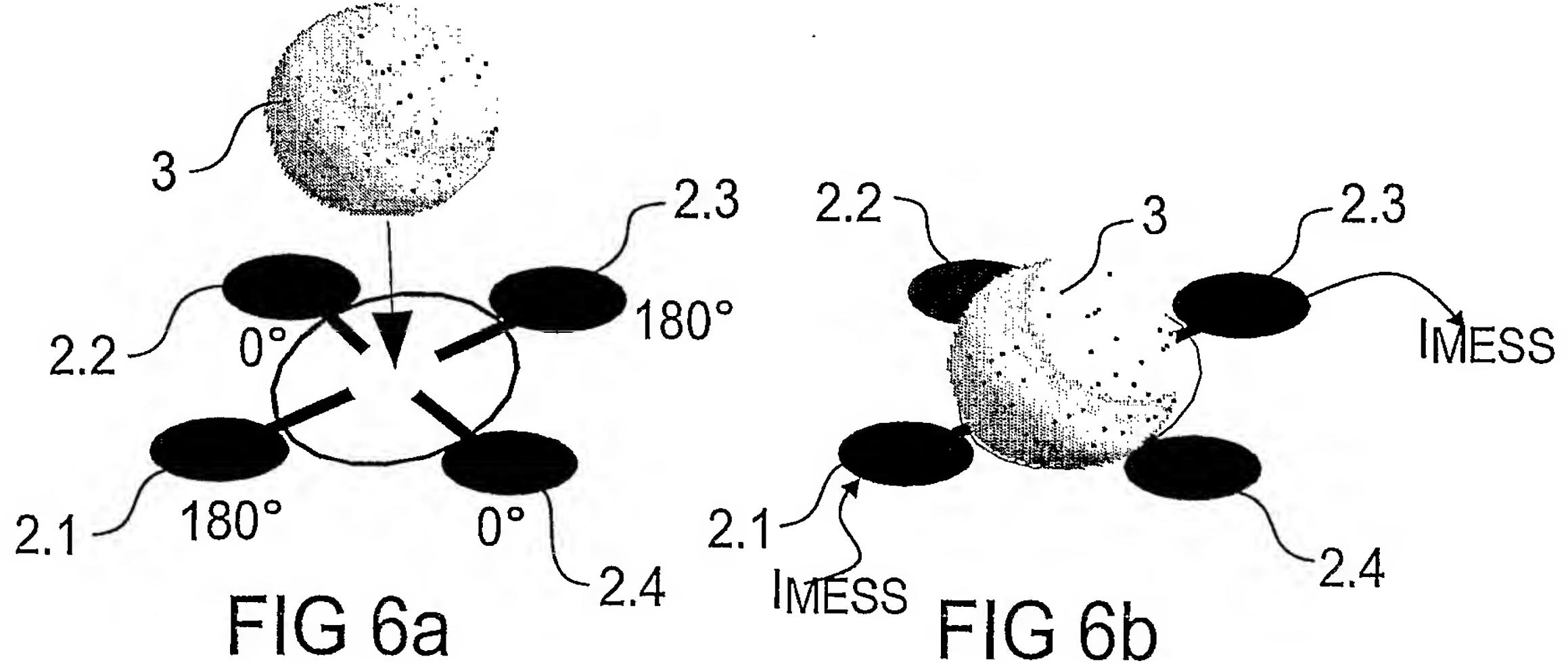


FIG 6a

FIG 6b